

Caractérisation de mutants au cours
de l'interaction
Botrytis-Arabidopsis en fonction de la
nature de la source azotée
(NO_3^- ou NH_4^+)

KÉVIN FLOCH

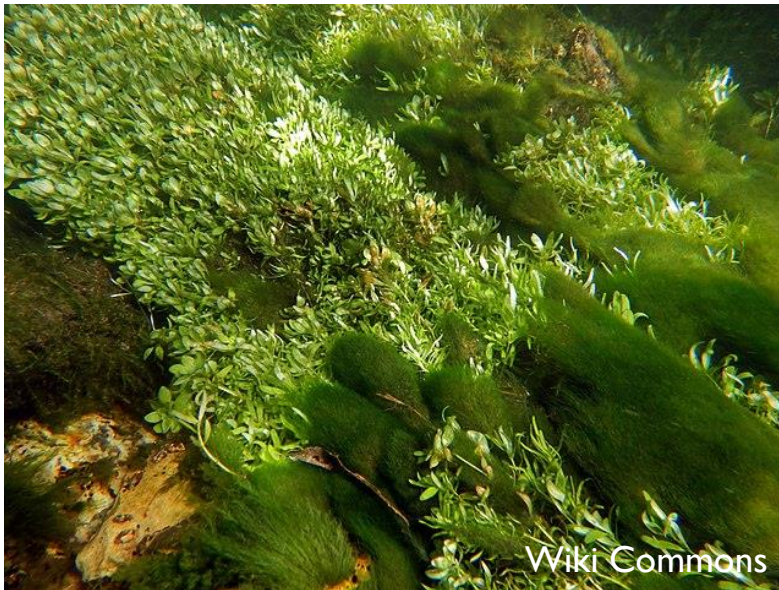
**M2 BIOLOGIE VÉGÉTALE
SEMENCES ET PLANTS**

**MARIE-CHRISTINE SOULIÉ & MATHILDE FAGARD
ÉQUIPE NITROGEN-PATHOGEN INTERACTION (NPI)**

CONTEXTE

Azote

Nitrate (NO_3^-) et ammonium (NH_4^+) → intrant



Agents pathogènes

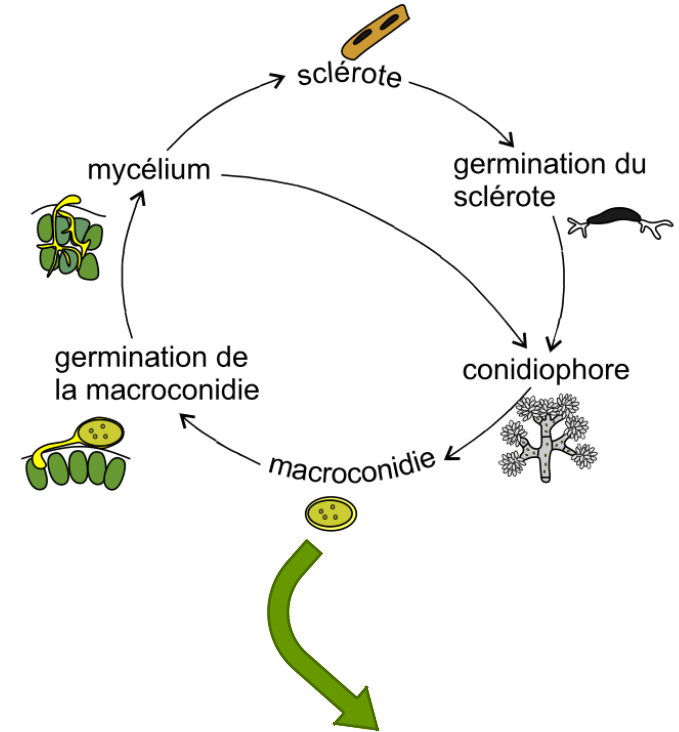
→ Impact sur les plantes



Azote → Incidence sur les maladies → Mécanismes sous-jacents ?

CONTEXTE

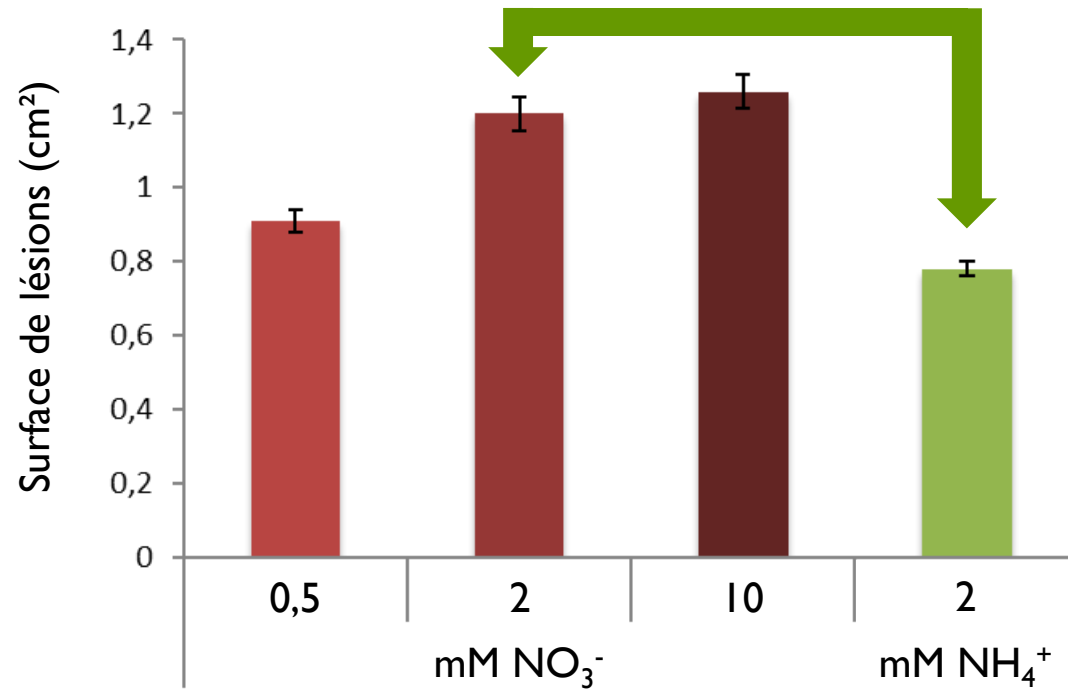
- *B. cinerea* → champignon phytopathogène polyphage
- Pourriture grise



- Champignon modèle → facteurs de pathogénicité et défenses décrites

CONTEXTE

- Impact de l'azote sur l'interaction *A. thaliana*-*B. cinerea*



B. cinerea sur *A. thaliana* (Col-0)



CONTEXTE

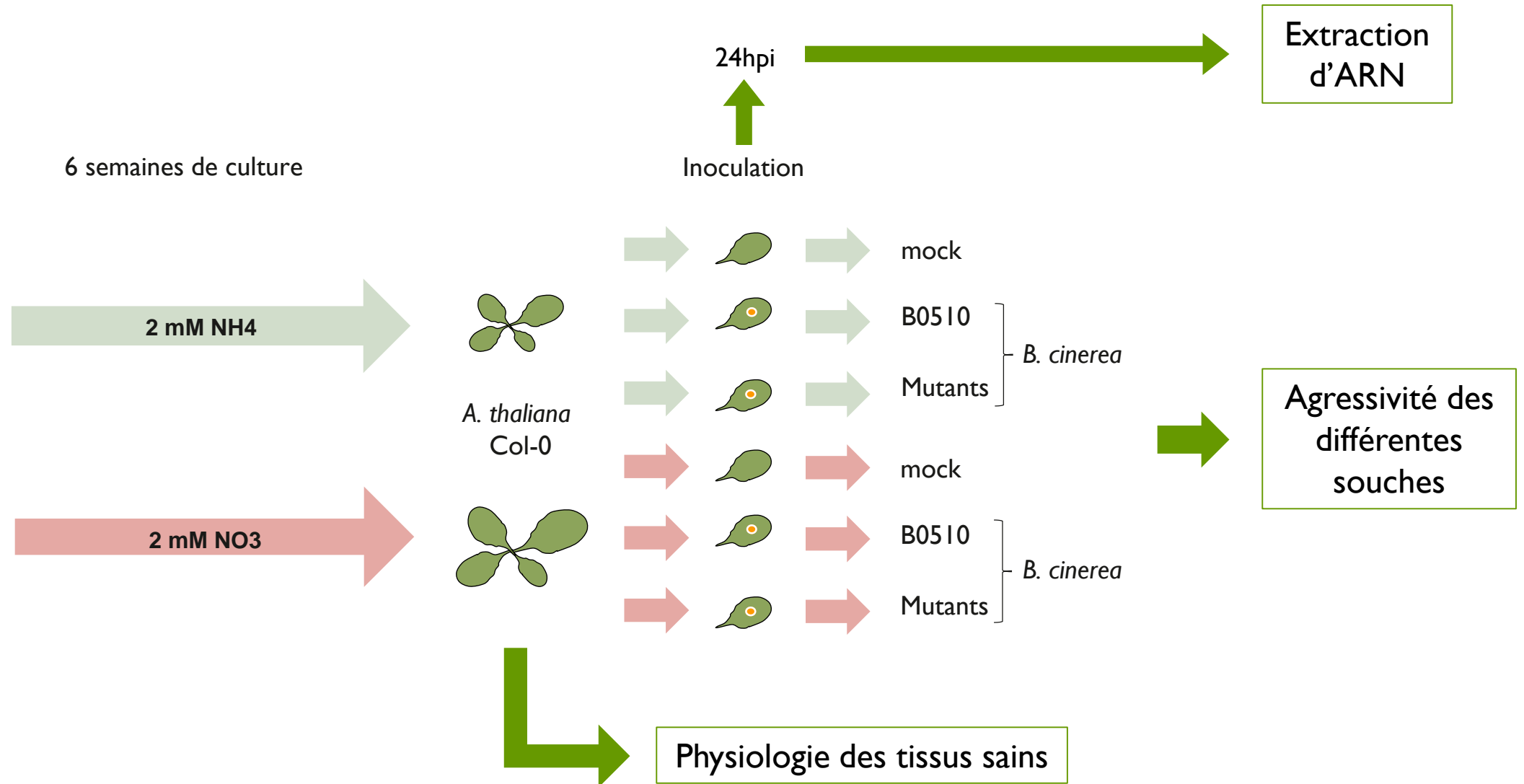
Etudes antérieures

- Analyse du transcriptome (*A. thaliana* - *B. cinerea*) 6hpi → Gènes différentiellement exprimés en fonction $[\text{NO}_3]$
 - *A. thaliana* :
 - 182 gènes différentiellement exprimés
 - *B. cinerea* :
 - 22 gènes différentiellement exprimés
 - Aussi différentiellement exprimés en NH_4^+
- }
 - *MS* → métabolite 2nd
 - *ACPI* → protéase acide
 - *BOT2* → toxine (botrydial)

Objectifs du projet : 3 mutants de *B. cinerea* affectés dans les 3 gènes sélectionnés

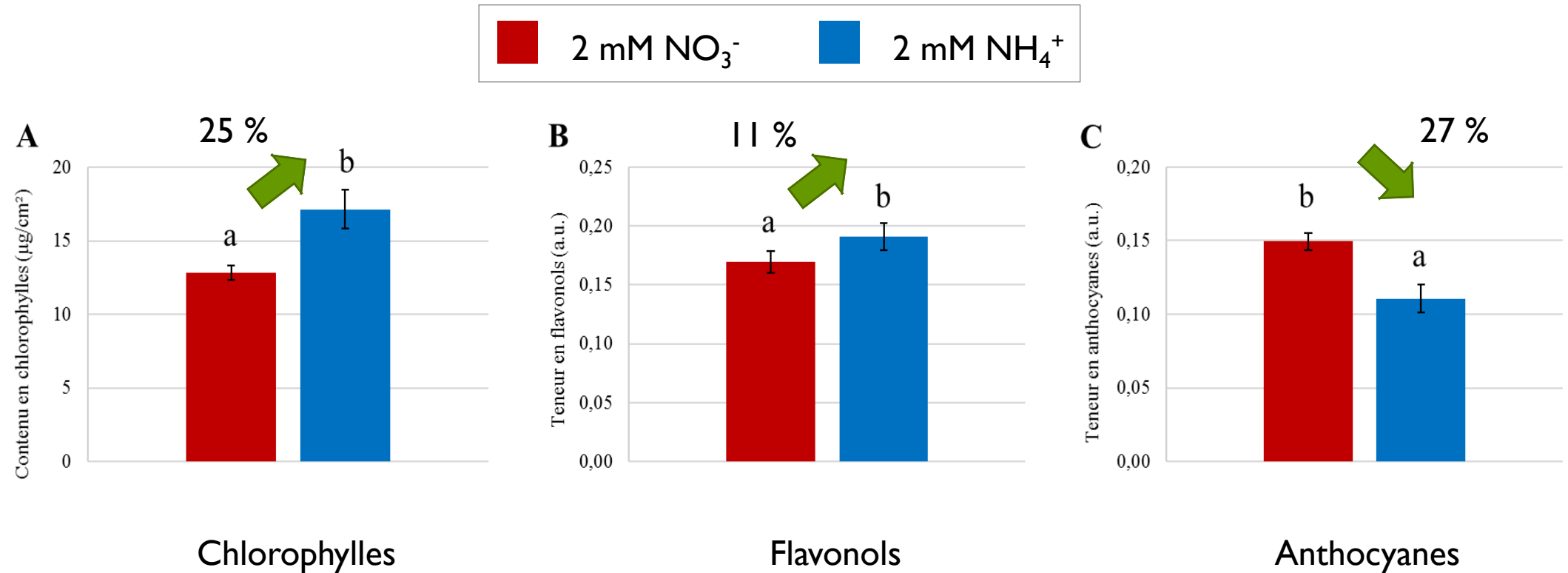
- Impliqués dans la pathogénicité de *B. cinerea* ?
- Expliquent la différence de symptômes en NO_3^- ou NH_4^+ ?
- Expression différente des gènes (pathogénicité et défense) en NH_4^+ ?

INTERACTION *A. THALIANA* - *B. CINEREA*



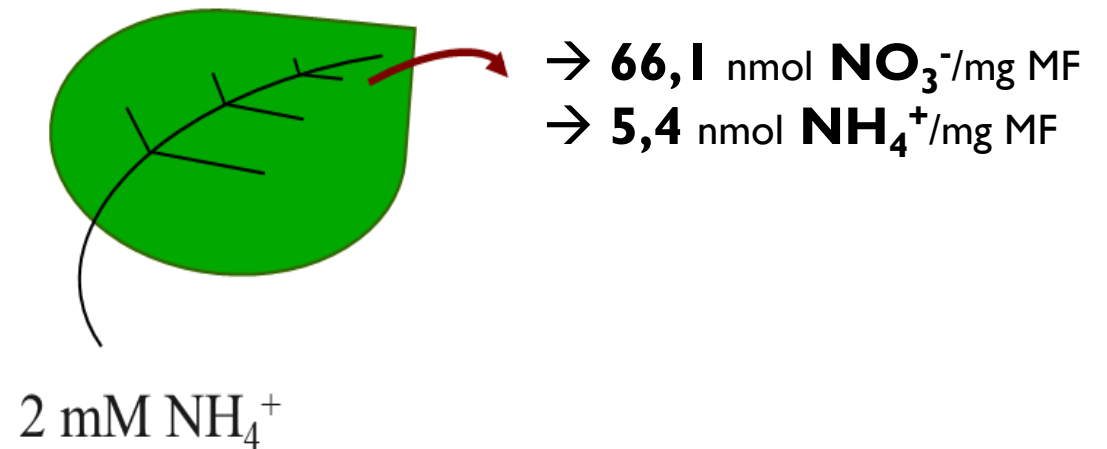
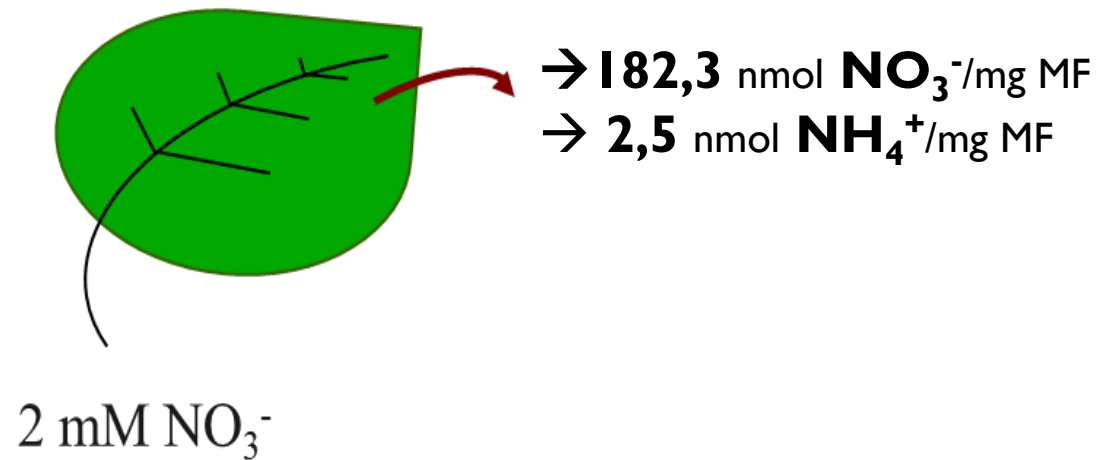
PHYSIOLOGIE DE LA PLANTE (Dualetx®)

- Effet de la source azotée sur la teneur de différents composés de la plante ?



PHYSIOLOGIE DE LA PLANTE (Dosage NO_3^- et NH_4^+)

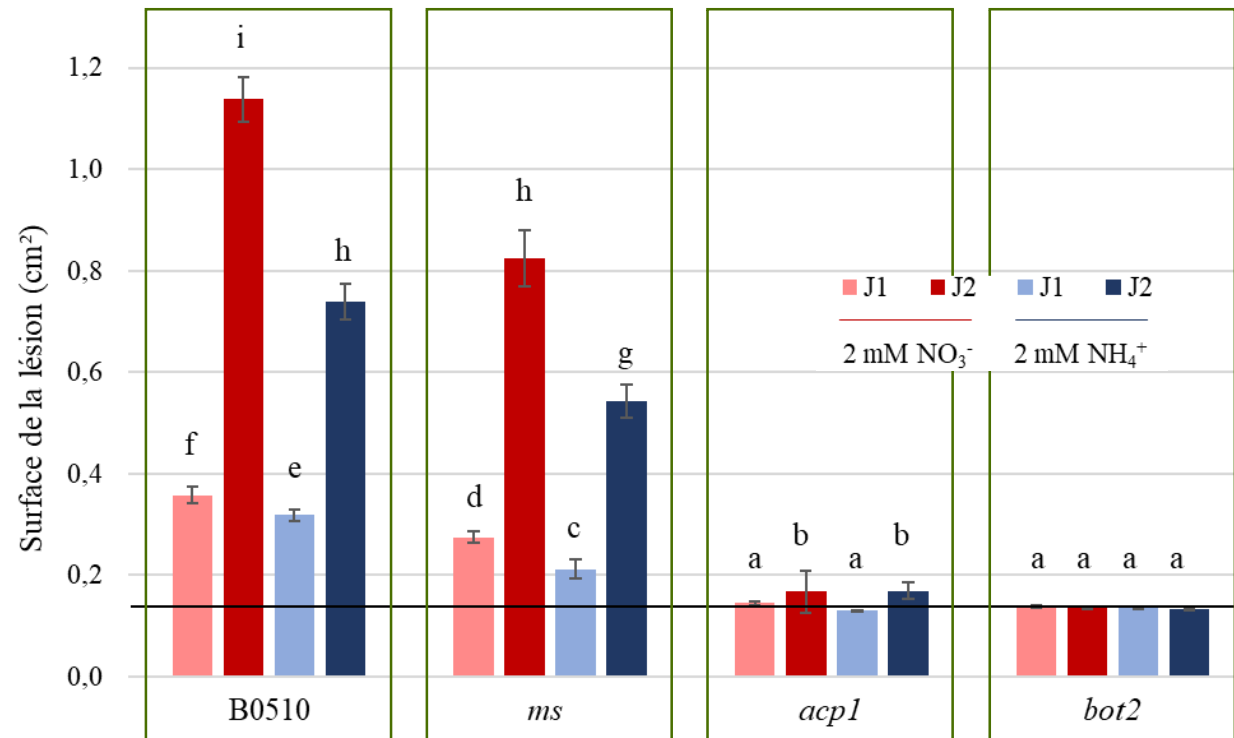
- Quelle est la quantité de NH_4^+ et NO_3^- disponibles dans les tissus sains ?



- Concentrations en *in vitro* → pas d'effet sur la croissance de *B. cinerea*

RÉSULTATS (Pouvoir pathogène)

➤ Analyse de l'agressivité de B0510 et des mutants *ms*, *acp1* et *bot2* sur *A. thaliana* Col-0






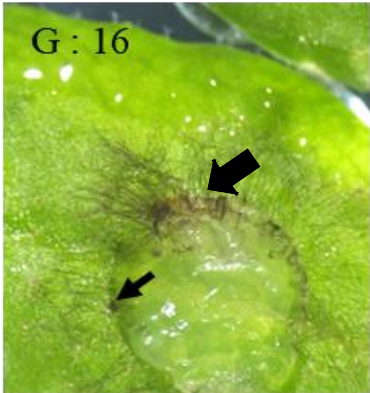

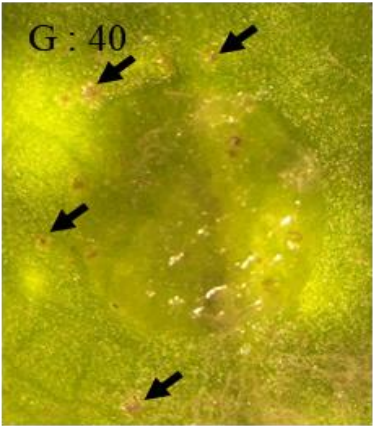
→ *A. thaliana* plus tolérant à *B. cinerea* en ammonium

→ *MS* participe à l'agressivité de *B. cinerea*

→ *ACPI* et *BOT2* contribuent à la pathogénicité de *B. cinerea*

RÉSULTATS (Pouvoir pathogène)

➤ Analyse des symptômes de la souche sauvage et des mutants (48 hpi)

Souches de <i>B. cinerea</i>	B0510	<i>ms</i>	<i>acp1</i>	<i>bot2</i>
2 mM NO ₃ ⁻			 	 

B0510 → macération tissulaire

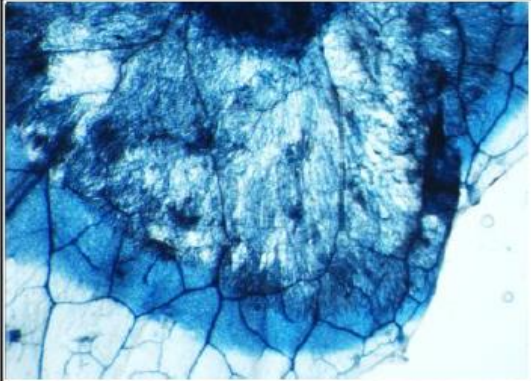
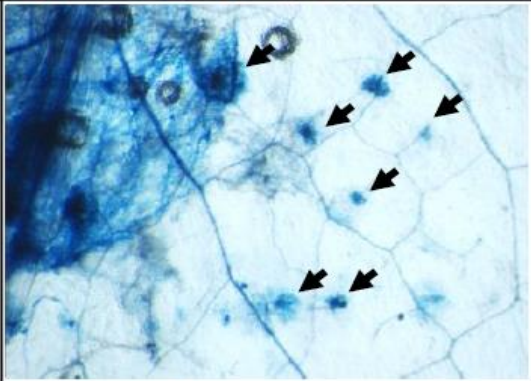
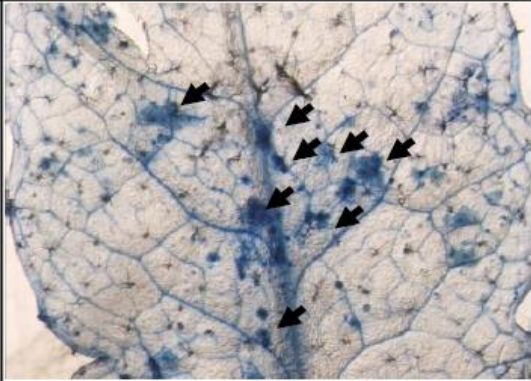
acp1 → points nécrotiques

ms → macération tissulaire plus faible

bot2 → points nécrotiques

RÉSULTATS (symptômes des différentes souches)

- Analyse de la coloration au bleu de trypan

Souches de <i>B. cinerea</i>	2 mM NO ₃
B0510 Réseau mycélien Cellules végétales mortes G : 16	
<i>acp1</i> G : 16	
<i>bot2</i> G : 8	

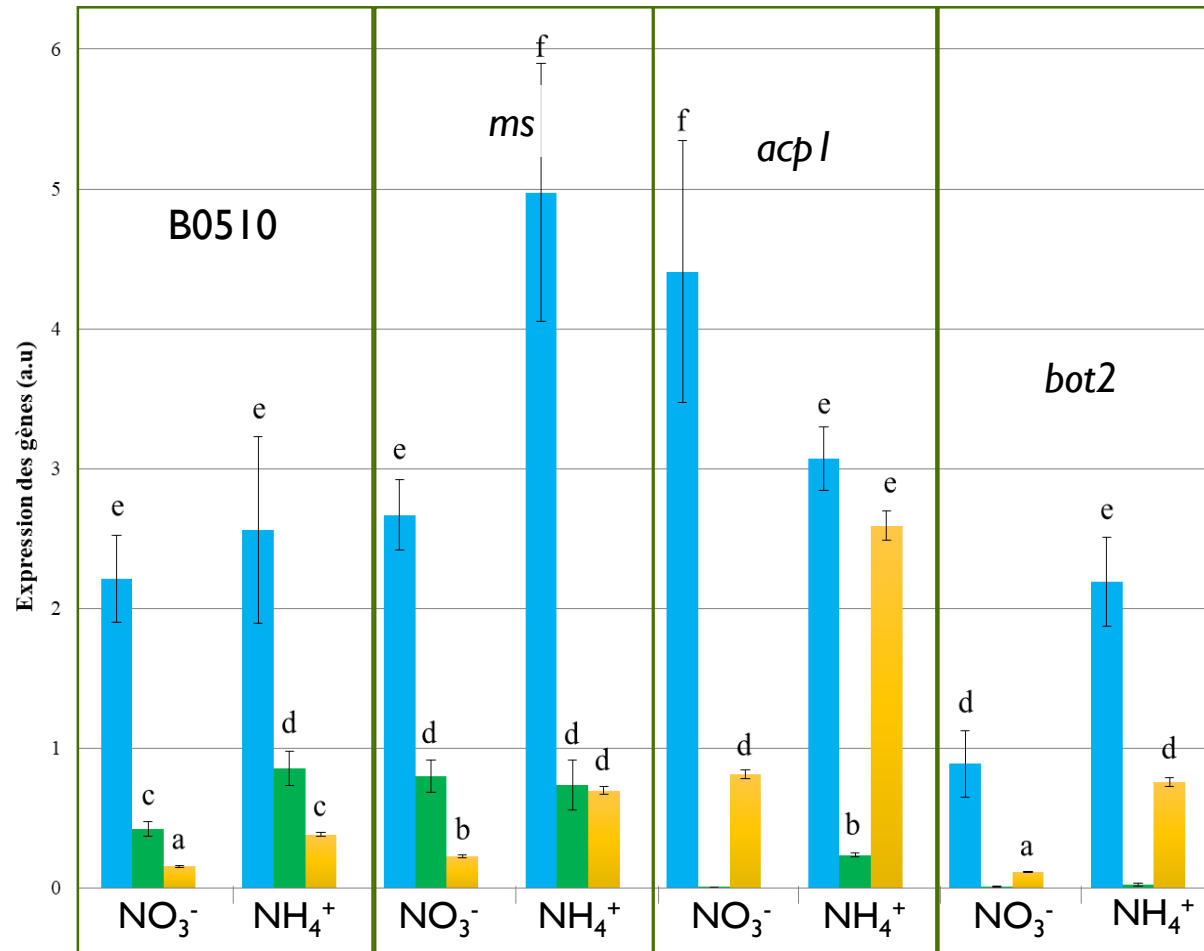
B0510 → mycélium dans les tissus

acp1 → points nécrotiques

bot2 → points nécrotiques

RÉSULTATS (PCR quantitative – *B. cinerea*)

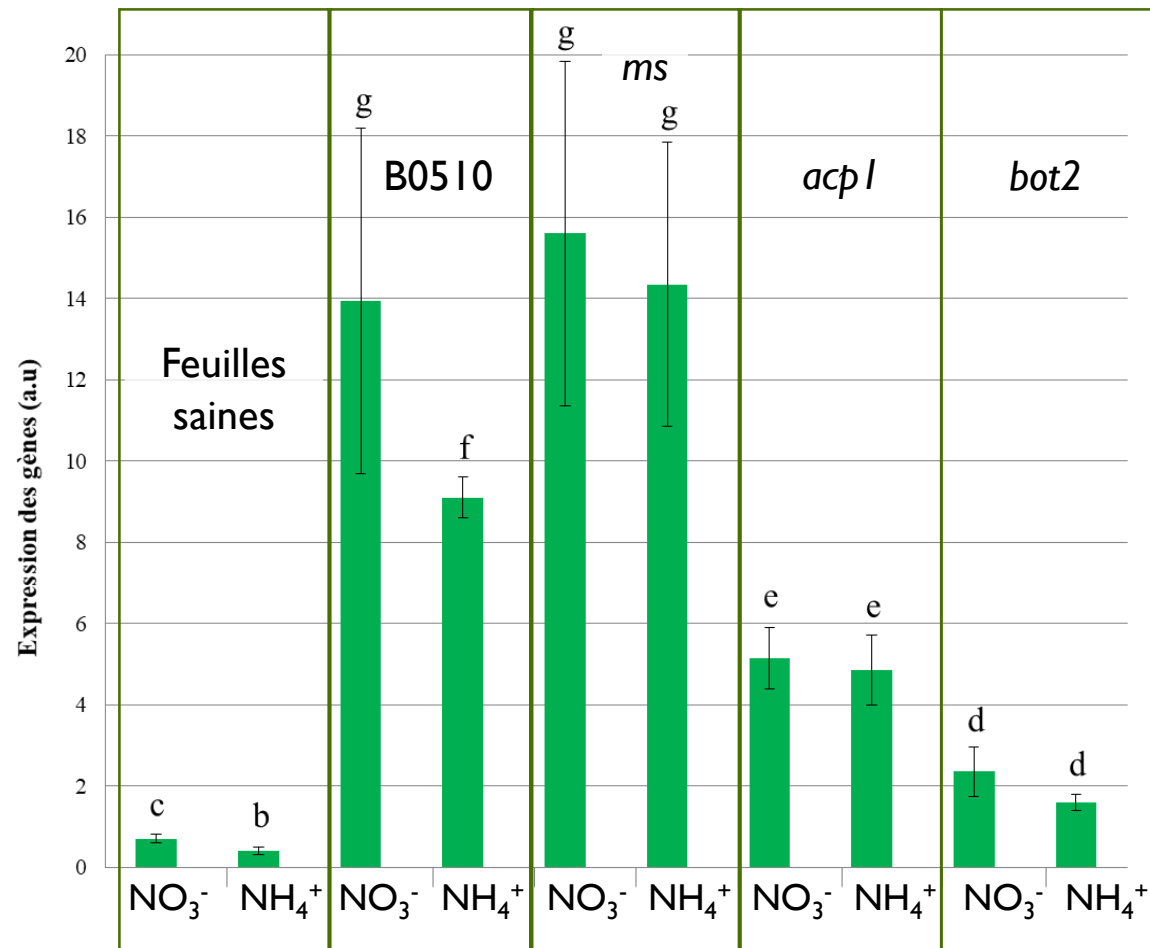
➤ Expression des gènes de *B. cinerea* in planta (24 hpi)



- **PGI** : gène le plus fortement exprimé
- **MS** : pas d'expression → expression à un temps plus court
- **ACPI** : faible expression
- **BOT2** : expression toujours plus importante en ammonium

RÉSULTATS (PCR quantitative – *A. thaliana*)

➤ Expression des gènes d'*A. thaliana* infecté par *B. cinerea* (B0510 et mutants) (24 hpi)



- **PDFI.2a** : gène le plus fortement exprimé après infection

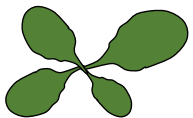
CONCLUSION

- **NH₄⁺** : Meilleure tolérance de *A. thaliana* en ammonium vis-à-vis de B0510 et des mutants
- **Mutants** :
 - Mutant *ms* : baisse d'agressivité
 - Pas de baisse d'expression des gènes de pathogénicité testés
 - Pas d'augmentation des défenses testées
 - Augmentation de l'expression de *PGI* en ammonium → rôle dans l'activation des défenses ?
 - Mutant *acp1* : très forte baisse d'agressivité
 - Quasiment le même raisonnement qu'avec le mutant *ms*
 - Forte expression de *BOT2* en ammonium
 - Mutant *bot2* : non pathogène
 - Mais pathogène sur haricot (Dalmais et al., 2011) → spécificité d'hôte ?

PERSPECTIVES



- Expression d'autres gènes de pathogénicité ?
 - Analyser l'expression d'autres gènes de pathogénicité connus (*PMEs*, *PLs*) chez *B. cinerea* qui pourraient expliquer la réduction d'agressivité des mutants *ms* et *acp1*
- A quel stade du processus infectieux les mutants sont-ils affectés ?
 - Analyse microscopique des mutants *acp1* et *bot2*
 - ➔ Mutant de pénétration ou de colonisation ?
- Tester d'autres plantes hôtes (spécificité d'hôte)



- Expression d'autres défenses?
 - Tester d'autres gènes de défense connus (*PAD3*, *LOX2*...) chez *A. thaliana*
 - Lignées *PAD3-GUS* ➔ tester localement
 - ROS, Callose en microscopie
- Etudier le comportement des mutants d'*A. thaliana* délétés au niveau des gènes de défense

Marie-Christine Soulié & Mathilde Fagard

Membres de l'équipe NPI

Bâtiment 3 & IJPB



M E R C I D E V O T R E A T T E N T I O N